



LORNE LABORATORIES LTD.

GREAT BRITAIN

REAGENTE DE GRUPO SANGÜÍNEO MONOCLONAL
Somente para uso diagnóstico *in-vitro* – Pronto para uso

ABO Monoclonal: Anti-A, Anti-B e Anti-A,B Monoclonais - Para técnicas em tubos, lâminas e microplacas.



ANTES DE UTILIZAR O PRODUTO, VERIFIQUE O NÚMERO DA INSTRUÇÃO DE USO E A VERSÃO CORRESPONDENTE NA EMBALAGEM DO MESMO.

PARA OBTER AS INSTRUÇÕES DE USO EM FORMATO IMPRESSO, SEM CUSTO ADICIONAL, CONTATAR O SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR: SAC (21) 3907-2534 / sac@kovalent.com.br

SUMÁRIO

Em 1900 Landsteiner descobriu que o soro de algumas pessoas poderia aglutinar as hemácias de outras. Quatro fenótipos comuns são reconhecidos atualmente: O, A, B e AB. Subgrupos de A e B foram então identificados.

Grupo			Grupo Reverso				Fenotipo ABO	Caucasianos %
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	42
0	+	+	+	+	0	0	B	10
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

PRINCÍPIO

Os reagentes causam aglutinação direta das hemácias teste, que carregam o antígeno ABO correspondente. A ausência de aglutinação geralmente indica a ausência dos antígenos ABO correspondentes (ver limitações).

REAGENTES

Os reagentes de grupo sanguíneo IgM monoclonal ABO Lorne contém anticorpos monoclonais de camundongo diluídos em um tampão fosfato contendo cloreto de sódio, EDTA e albumina bovina. Cada reagente é fornecido em uma diluição ótima para ser usado com todas as técnicas recomendadas, sem a necessidade de diluição ou adição posterior. O número de referência do lote e data de vencimento estão impressos nos rótulos dos frascos.

Produto	Linha celular/clone	Cor	Corante usado
Anti-A	9113D10	Azul	Azul patentado
Anti-B	9621A8	Amarelo	Tartrazina
Anti-A,B	9113D10 + 152D12	Incolor	Nenhum

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os frascos originais devem ser armazenados de 2-8°C. Não congelar. O armazenamento prolongado a temperaturas fora das especificações pode resultar em perda acelerada da reatividade.

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de sangue colhidas com ou sem anticoagulante, podem ser usadas para tipagem antigênica. Se ocorrer algum atraso no teste, armazenar as amostras a 2-8°C. As amostras colhidas em EDTA ou citrato devem ser analisadas assim que possível. As amostras colhidas em ACD, CPD ou CPDA-1 podem ser testadas até 35 dias após a coleta. Amostras com evidência de lise podem fornecer resultados não confiáveis.

PRECAUÇÕES:

- O reagente é somente para uso em diagnóstico *in vitro*.
- Se o frasco estiver rachado ou vazando, descartar o conteúdo imediatamente.
- Não utilizar reagentes fora da data de vencimento (ver rótulos).
- Não utilizar os reagentes se houver presença de precipitados.
- Durante a manipulação dos reagentes, deve-se utilizar equipamentos de proteção individual (EPI), como luvas descartáveis e aventais de proteção (jalecos).
- O reagente foi esterilizado por filtração através de um filtro de 0.2 µm para reduzir a contaminação. Uma vez que o frasco for aberto, o conteúdo permanece viável até a data de vencimento, desde que não haja nenhuma turbidez que indique contaminação ou deterioração.
- Este reagente possui azida sódica <0,1% e é classificado pelas Diretrizes aplicáveis da comunidade Européia (CE) como nocivo (Xn).
- Os materiais usados foram testados como negativos para HBsAg e anticorpos anti HIV1+2 e HCV com técnicas microbiológicas aprovadas.

- Nenhum teste pode garantir que produtos derivados de fontes animais ou humanas estejam livres de agentes infecciosos, portanto, todo cuidado deve ser tomado no manuseio e descarte de cada frasco e seu conteúdo.

DESCARTE DO FRASCO DE REAGENTE E CONTEÚDO

Para informação de descarte do reagente e descontaminação, seguir as disposições da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes, vide revisão em vigor. Caso necessário, consultar o MSDS (Material Safety Data Sheets) que pode ser disponibilizado quando requerido.

CONTROLES E AVISOS

- Recomenda-se que sejam testados um Controle Positivo e um Controle Negativo a cada bateria de testes. O teste deve ser considerado inválido se os controles não demonstrarem os resultados esperados.
- Quando definir um grupo sanguíneo de um paciente é importante que um controle negativo seja incluído, pois os potencializadores macromoleculares do reagente podem causar reações falso positivas com células revestidas com IgG.
- Amostras de sangue de subgrupos fracos A ou B (ex: Ax) podem aumentar os falso-negativos ou reações fracas quando testados em lâminas, microplacas ou cartões de gel. É recomendável o reteste de subgrupos fracos com a técnica em tubo.
- Indivíduos com mais de 6 meses devem ter seus resultados confirmados com teste para grupo A1 e células B em soro ou plasma antes que seja confirmado seu grupo sanguíneo ABO.
- Nas Técnicas Recomendadas um volume corresponde a aproximadamente 50µl, quando usando o conta-gotas fornecido com o frasco.
- O uso dos reagentes e a interpretação dos resultados devem ser realizados por pessoal treinado e qualificado, de acordo com os requerimentos do país onde o reagente está sendo usado.
- O usuário deve determinar a adequação do reagente para o uso em outras técnicas.

MATERIAL NECESSÁRIO

- Bastões aplicadores
- Leitor de placas automático
- Lâminas de vidro de microscopia
- Tubos teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Agitador de placas
- Tampão salina fosfato (PBS) - pH 6.8-7.2 ou Solução Fisiológica 0,9% - pH 6.5-7.5.
- Controle de hemácias positivo e negativo:
Anti-A: hemácias A₂B (controle positivo), hemácias O (controle negativo)
Anti-B: hemácias A₁B (controle positivo), hemácias O (controle negativo)
Anti-A₁B: hemácias A₁B (controle positivo), hemácias O (controle negativo)
- Centrífuga de tubos teste
- Pipetas volumétricas
- Centrífuga de microplacas
- Microplacas "U" validadas

TÉCNICAS RECOMENDADAS

Técnica em Tubo

- Preparar uma suspensão das hemácias a testar à 2-5% em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
- Colocar em um tubo identificado: 1 volume de Reagente anti-ABO Lorne e 1 volume da suspensão de hemácias a testar.
- Misturar totalmente e centrifugar todos os tubos por 10 segundos a 1000 rcf ou por tempo e força alternativos adequados.
- Ressuspender o botão de hemácias suavemente e ler a aglutinação macroscopicamente.
- Os tubos que demonstrarem um resultado duvidoso devem ser incubados por 15 minutos a temperatura ambiente.
- Após a incubação repetir os passos 3 e 4.

Técnica em Microplaca Usando Cavidades em "U"

- Preparar uma suspensão de hemácias a testar a 2-5% em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
- Colocar na cavidade adequada: 1 volume da suspensão de hemácias a testar e 1 volume de Reagente Anti-ABO Lorne

- Misturar totalmente, preferivelmente com um agitador de microplacas, tomando cuidado para evitar a contaminação cruzada entre as cavidades.
- Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.
- Centrifugar a microplaca por 1 minuto a 140rcf ou por tempo e força alternativos adequados.
- Ressuspender o botão de hemácias suavemente usando agitação controlada em um agitador de microplacas.
- Ler a aglutinação macroscopicamente ou com um leitor validado.
- Qualquer reação fraca deve ser repetida pela técnica em tubo.

Técnica em Lâmina

- Preparar uma suspensão de hemácias a testar a 35-45% em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
- Colocar em uma lâmina de vidro marcada: 1 volume da suspensão de hemácias a testar e 1 volume de Reagente Anti-ABO Lorne
- Usando um bastão aplicador limpo, misturar os reagentes em uma área de cerca de 20x40mm.
- Inclinar vagarosamente a lâmina por 30 segundos com agitações posteriores ocasionais durante um período de 2 minutos mantendo a temperatura ambiente.
- Ler macroscopicamente após 2 minutos em uma luz difusa e não confundir a presença de fibrina com aglutinação.
- Qualquer reação fraca deve ser repetida pela técnica em tubo.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

- Positivo:** a aglutinação das hemácias teste constitui um resultado positivo e dentro das limitações aceitas do procedimento indicam a presença do antígeno apropriado ABO nas células teste.
- Negativo:** nenhuma aglutinação das hemácias teste constitui um resultado negativo e dentro das limitações aceitas do procedimento indicam a ausência de um antígeno apropriado ABO nas células teste.
- Discrepâncias:** se os resultados obtidos com o grupo reverso não se relacionarem com grupo pesquisado, é necessário continuar a investigação.
- Os resultados dos testes, cujo controle negativo forneceu aglutinação, devem ser excluídos, pois a aglutinação deve ser provavelmente causada pelo efeito do potencializador macromolecular do reagente.

ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

- Ler todos os tubos e microplacas logo após a centrifugação.
- Os testes em lâminas devem ser interpretados dentro de 2 minutos, para assegurar a especificidade e evitar a possibilidade de um resultado negativo ser incorretamente interpretado como positivo, devido ao ressecamento do reagente.
- Muito cuidado na interpretação dos resultados dos testes realizados em outras temperaturas que não as recomendadas.

LIMITAÇÕES:

- Os antígenos ABO não estão totalmente desenvolvidos no nascimento, portanto podem ocorrer reações fracas com amostras neonatais ou de cordão.
- Quando usar o Reagente anti-A,B Monoclonal em amostras de sangue de subgrupos fracos A ou B (ex: Ax), pode haver um aumento de resultados falso-negativos ou reações fracas em testes realizados em lâminas, placas ou cartões gel. É aconselhável retestar os subgrupos fracos com a técnica em tubo.
- Os Reagentes Anti-A Monoclonal e Anti-B Monoclonal não são validados para a detecção de antígenos Ax e A3 ou Bx e B3 e, portanto, não há reatividade destes reagentes para os subgrupos fracos A e B.
- O sangue armazenado pode fornecer reações mais fracas que o sangue fresco.
- Resultados falso-positivos ou falso-negativos podem ocorrer devido a:
 - Contaminação do material a testar
 - Concentração celular inadequada
 - Tempo de incubação ou temperatura inadequada
 - Centrifugação inadequada ou excessiva
 - Armazenamento inadequado dos materiais de teste
 - Desvio das técnicas recomendadas
 - Amostras de cordão contaminadas
- Em caso de resultados duvidosos ou discrepantes com a prova reversa, lavar a amostra no mínimo duas vezes com tampão PBS ou Solução Fisiológica 0,9% e repetir o teste.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

- O reagente foi caracterizado pelos procedimentos mencionados nas **Técnicas Recomendadas**.
- Antes de ser liberado, cada lote de Anti-A, Anti-B e Anti-A,B Lorne é testado pelas **Técnicas Recomendadas** contra um painel de células vermelhas antígeno-positivas para assegurar reatividade adequada.
- A especificidade dos anticorpos monoclonais é demonstrada usando um painel de células antígeno-negativas.
- A potência dos reagentes foi testada contra os padrões de referência mínimos obtidos do Instituto Nacional de Padrões e Controles Biológicos.
 - Anti-A referência padrão 88/722 e/ou
 - Anti-B referência padrão 88/724
- Anti-B Lorne não reage com células B adquiridas.
- Os reagentes monoclonais ABO Lorne não detectam antígenos como T, Tn ou Cad.

- O Controle de Qualidade deste reagente foi realizado usando hemácias lavadas com tampão PBS ou Solução Fisiológica 0,9% antes do uso.
- Os reagentes estão de acordo com recomendações do último artigo Guia de Transfusão de Sangue de United Kingdom.

GARANTIA

O usuário é responsável pelo desempenho dos reagentes e outras técnicas não recomendadas. Qualquer desvio das Técnicas Recomendadas deve ser validado antes do uso (9).

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.







BIBLIOGRAFIA

- Kholer G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975; 256, 495-497
- Messeter L et al. Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-A,B specificities, some superior to human polyclonal ABO reagents. Vox Sang 1984; 46, 185-194
- Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2.
- Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition, Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
- BSCH Blood Transfusion Task Force. Guidelines for microplate techniques in liquid-phase blood grouping and antibody screening, Clinical Laboratory Haematology 1990; 12, 437-460.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
- British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

APRESENTAÇÕES

Anti-A monoclonal	10ml
	10 x 10 ml
Anti-B monoclonal	10ml
	10 x 10 ml
Anti-A,B monoclonal	10ml
	10 x 10 ml

QUADRO DE SÍMBOLOS

REF	Numero do catálogo		Prazo de validade
	Para diagnóstico in vitro		Número de lote
	Fabricante		Ler as Instruções de Uso
	Conservar a		

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR

Fabricado por:
Lorne Laboratories Ltda
 Unit 1 Danehill
 Cutbush Park Industrial Estate
 Lower Earley
 READING
 Berks, RG6 4UT
 United Kingdom

Importado e Distribuído por:
Kovalent do Brasil Ltda.
 Rua Cristóvão Sardinha, 110 – Jd. Bom Retiro
 São Gonçalo – RJ – CEP 24722-350
 www.kovalent.com.br
 CNPJ: 04.842.199/0001-56
 Farm. Resp.: Jorge A. Janoni CRF: 2648-RJ
 MS: 80115310094
SAC: sac@kovalent.com.br - (21) 3907-2534